

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene

Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Werner Schlichtöter

Abteilung für experimentelle Pathologie

Leiter: Prof. Dr. med. Werner Hilscher

und aus dem Anatomischen Institut (Lehrstuhl II)
der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. H.G. Goslar

Enzymhistochemische Untersuchungen

zur Cadmiumschädigung

16 Tage alter Rattenfeten

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Bierwirth

1981



Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene

Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für experimentelle Pathologie

Leiter: Prof. Dr. med. Werner Hilscher

und aus dem Anatomischen Institut (Lehrstuhl II)
der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. H.G. Goslar

Enzymhistochemische Untersuchungen

zur Cadmiumschädigung

16 Tage alter Rattenfeten

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Bierwirth

1981

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

gez.: Professor Dr. med. Arnold

Referent

gez.: Professor Dr. med. Hilscher

Korreferent

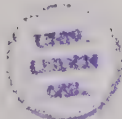
gez.: Professor Dr. med. Goslar

Gliederung:

1) Einleitung	Seite 4
2) Material und Methode	Seite 5
Versuchstiere	
Gewebeaufbereitung	
Histologie	
Enzymhistochemie	
3) Aufbau der Rattenplazenta	Seite 8
4) Befunde	Seite 11
Plazenta:	
Histologische Befunde	
Enzymhistochemische Befunde	
Leber (Feten):	
Histologische Befunde	
Enzymhistochemische Befunde	
Organbefunde der Muttertiere:	
Leber: Histologische und enzymhistochemische Befunde	
Niere: Histologische und enzymhistochemische Befunde	
Darm : Histologische und enzymhistochemische Befunde	
5) Diskussion	Seite 28
6) Zusammenfassung	Seite 36
7) Bildanhang	Seite 38
8) Literaturverzeichnis	Seite 45
9) Lebenslauf	Seite 52

E i n l e i t u n g

Zahlreiche Studien haben ergeben, daß bei Nagern die Gabe von Schwermetallsalzen, insbesondere die Applikation von Cadmiumchlorid Mißbildungen hervorruft oder ein Absterben der Feten verursacht. Übereinstimmend sind Mißbildungen von Parizek (1965), Webb (1972), Chernoff (1973), Barr (1973) und Hilscher (1974) beschrieben worden. Ferm (1969) und Ischizu (1973) beobachteten nach Cadmiumgabe während der Embryogenese ebenfalls Mißbildungen. Eine gleich hohe Cadmiumapplikation während der Fetogenese führt dagegen mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem Absterben der Mehrzahl der Feten (Hilscher 1978). Als mögliche Ursachen für den Fruchttod während der Fetogenese können a) eine Störung im Stoffwechsel der Muttertiere, b) eine Schädigung der Plazenta und c) eine direkte Schädigung der Feten diskutiert werden. Bis heute ist keine sichere Aussage darüber zu machen, ob Cadmium direkt auf das mütterliche System, auf die Plazenta und den plazentaren Transfer oder direkt auf den Fetus wirkt (Parzyk 1978). Um die Gründe für das Absterben der Feten zu erhellen, sind wir in der vorliegenden Studie bevorzugt möglichen Veränderungen in der Plazenta nachgegangen, da dieses Organ in besonderem Maße für die Versorgung des Feten mit lebensnotwendigen Stoffen und für den Stoffaustausch zwischen fetalem und mütterlichem Teil entscheidend ist. Zusätzlich wurde die Leber der Feten auf mögliche Veränderungen untersucht. Darüber hinaus suchten wir nach pathologischen Veränderungen in Leber, Niere und Darm der Muttertiere. Dabei kamen neben histologischen vorwiegend enzymhistochemische Untersuchungsmethoden zur Anwendung.



Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 20 trächtigen Wistarratten und deren Feten - 15 Versuchstiere und 5 Kontrolltiere - durchgeführt.

Zum Zeitpunkt der Tötung wogen die Tiere durchschnittlich 231 g (197 - 300 g). Bei sämtlichen Versuchstieren erfolgte am 16. Trächtigkeitstag eine Cadmiumchloridapplikation. Dieser Tag wurde in folgender Weise ermittelt: 2 Männchen waren zur Paarung über Nacht in einen Käfig zu 2 - 6 Weibchen gesetzt worden. Am folgenden Tag kamen die Weibchen mit Vaginalpfropf oder mit Spermien im Scheidenabstrich in Einzelkäfige. Der Tag, an dem der Vaginalpfropf oder die Spermien nachgewiesen werden konnten, wurde als der 1. Trächtigkeitstag bezeichnet. Laufende Gewichtskontrollen in den darauffolgenden Tagen bestätigten die Trächtigkeit der Tiere.

Für die Versuchsdurchführung waren je 5 Tiere zu einer Gruppe zusammengefaßt worden.

Folgende Cadmiumchloriddosen wurden appliziert:

Die erste Gruppe erhielt 5 mg/kg/12 Std.,
die zweite Gruppe 2,5 mg/kg/12 Std. und
die dritte Gruppe 5 mg/kg/6 Std.

Allen Tieren wurde zwischen 8.00 und 9.00 Uhr Cadmiumchlorid, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, intraperitoneal injiziert. Die fünf Kontrolltiere erhielten bei gleicher Injektionstechnik nur das Lösungsmittel.

6 Stunden bzw. 12 Stunden nach Cadmiumgabe erfolgte die Tötung der Tiere mittels einer Ätherinhalationsnarkose. Nach Eröffnung der Bauchhöhle und Entnahme des Uterus wurde dieser zwischen seinen Segmentgrenzen durchtrennt und die Feten mit dem umgebenden zugehörigen Uterusabschnitt und der Plazenta sofort in N₂-gekühltem Isopentan

(2-Methylbutan), (Winkler 1970, Gossrau 1971) für etwa 3 - 4 Minuten eingefroren.

3 Tieren der Gruppe I wurden zusätzlich Gewebeproben von Leber, Niere und Darm (Ileum) entnommen und wie oben beschrieben behandelt. Die Aufbewahrung bis zur Verarbeitung erfolgte in Plastiktüten in CO₂-Schnee, die in einer Tiefkühltruhe bei - 80° Celsius lagerten. Die Aufarbeitung der entnommenen Organe dauerte nicht länger als drei Tage. Bei - 25° Celsius wurden ca. 10 µm dicke Kryostatschnitte angefertigt. Neben einer Haemalaun-Eosin-Färbung nach Mayer kamen folgende histochemische Enzymdarstellungen zur Anwendung:

A) Oxidoreduktasen

1. Lactat-Dehydrogenase (s. Pearse 1972, mit TNBT als Akzeptor, s. ROSA und TSOU 1961, OGAWA 1961, REISS 1967 und GOSLAR 1971);

B) Hydrolasen

1. Saure Phosphatasen: Azokupplungsmethode nach BARKA (s. BARKA und ANDERSON 1962), Substrat: Alpha-Naphtylphosphat, Kuppler: hexazotiertes Pararosanilin, pH 5,5.
Bebrütungszeit: 75 Minuten bei 37° Celsius.
2. Adenosintriphosphatase (ATP - ase): Calciummethode nach PADYKULA und HERMAN (1955) s. PEARSE 1972; pH 9,4.
Bebrütungszeit: 30 Minuten bei 37° Celsius.
Um die alkalischen Phosphatasen, die diesen Nachweis beeinflussen können zu hemmen, wurde 0,0025 M L (+) - Cystein dem Inkubationsmedium zugesetzt.
3. Thiaminpyrophosphatase (TPP - ase): nach ALLEN und SLATER (1961), mit 0,005 M Cocarboxylase (TPP) als Substrat (s. PEARSE 1972).
Um die alkalischen Phosphatasen, die diese Reaktion

beeinträchtigen können (ALLEN und SLATER 1959)
zu hemmen, wurde 0,004 M L (+) - Cystein dem
Inkubationsmedium zugesetzt; pH 9,5.
Bebrütungszeit: 10 Minuten bei 37° Celsius.

Für die Fixierung gilt:

Die sauren Phosphatasen und die ATP - ase wurden in mit
Formol-Calcium fixierten Schnitten nachgewiesen.

Formol-Calcium wurde wie folgt hergestellt:
40,0 g Paraformaldehyd und 10,0 g Calciumchlorid
werden auf 1000 ml mit Aqua dest. aufgefüllt.
Erhitzen des Gemisches auf 70° Celsius, bis
Paraformaldehyd gelöst ist. Einstellen der
Lösung auf einen pH von 7,2 - 7,4 mit
0,1 N - 1 N NaOH.

Die LDH und TPP - ase wurden in nativen Schnitten nachge-
wiesen und diese Schnitte anschließend in Formol-Calcium
nachfixiert.

Bei allen Reaktionen wurden Schnitte von ein bis zwei
Versuchstieren gemeinsam mit den Schnitten eines Kontroll-
tieres in der gleichen Lösung bebrütet.

Aufbau der Rattenplazenta

Die Rattenplazenta unterscheidet sich von der menschlichen Plazenta in zahlreichen Details. Die discoidale Plazenta der Nagetiere ist eine Labyrinthplazenta, in der mütterliches Blut in engen Kanälen in den Maschen eines vom Chorion gebildeten Netzwerkes fließt (Michel 1972).

In den Kapillarbereichen des Labyrinths sind die mütterlichen Bluträume und die fetalen Gefäße parallel zueinander angeordnet. Die Blutströme von Mutter und Fet laufen jedoch in entgegengesetzter Richtung, wodurch eine bessere Diffusionsleistung erzielt werden soll (Starck 1975). Die Rattenplazenta entwickelt sich aus dem Ektoplazentarkonus (Duval 1891), der den mesometralen, sich allmählich verdickenden embryonalen Pol der Blastozyste darstellt. Der Ektoplazentarkonus wird ab dem 8. Embryonaltag von mütterlichen Gefäßen durchdrungen (Davies u. Glasser 1968). Er ist begrenzt von einer Schicht aus Chorionriesenzellen, die um die ganze Blastozyste angeordnet sind und so eine "unvollständige" Schicht bilden. Am 10. Embryonaltag erscheint in Verbindung zu dem oberflächlichen Teil des Ektoplazentarkonus ein mesodermales Gebilde, das Chorion-Allantois-Mesoderm genannt wird. Dieses mesodermale Gebilde ist aktiv angioblastisch, dehnt sich tief in den ekto-plazentaren Trophoblasten aus und ist an der Bildung des Labyrinths beteiligt (Davies u. Glasser 1968).

An das Labyrinth grenzt eine Zellregion, die von den einzelnen Untersuchern bzw. Autoren unterschiedlich bezeichnet wird. Everett (1935) nannte diesen Plazentarschnitt "Zentralzone", Dempsey und Wislocki (1945) "Junctionalzone", Schiebler und Knoop (1959) "Trophospongium" und Davies und Glasser (1968) "Basalzone". Der von

Dempsey und Wislocki geprägte Begriff "Junctionalzone" gleich "Verbindungszone" scheint für die Funktion dieses Plazentarteils wohl die z.Zt. am meisten zutreffende Bezeichnung zu sein.

Bis zum 14. Tag hat sich die Verbindungszone zu einem Gewebe entwickelt, das drei verschiedene Zelltypen enthält:

1. Spongiotrophoblastzellen,
2. Glykogenzellen,
3. Riesenzellen.

Die Verbindungszone besteht überwiegend aus Spongiotrophoblastzellen. Es sind dies meist rundliche, mit relativ dichtem Zytoplasma ausgestattete Zellen (Schiebler und Knoop 1959, Davies und Glasser 1968, Franke 1969).

Zwischen den Spongiotrophoblastzellen befinden sich als zweiter Zelltyp die Glykogenzellen; sie kommen einzeln vor oder bilden Zellinseln (Schiebler und Knoop 1959, Padykula and Richardson 1963, Franke 1969).

Als dritter Zelltyp fallen besonders großkernige, lang gestreckte Zellen auf. Sie werden in den bisher veröffentlichten Untersuchungen als Riesenzellen bezeichnet (Everett 1935, Schiebler und Knoop 1959, Padykula 1963, Davies und Glasser 1968, Franke 1969). Sie gehen von einer zwischen der Decidua und der Verbindungszone gelegenen Gewebsschicht aus, die Riesenzellzone genannt wird: Die Riesenzellen bilden eine Schicht von zwei bis drei Zellagen. Von da ausgehend durchziehen die Riesenzellen in strangförmiger Anordnung das aus Spongiotrophoblastzellen bestehende Gewebe der Verbindungszone, setzen sich bis in das Labyrinth fort und verbinden auf diese Weise das Labyrinth mit der Riesenzellzone (Franke 1969).

Everett (1935) hob hervor, daß neben der Chorion-Allantois-Plazenta noch eine "Yolk sac - Plazenta" existiere, die sich vom 10. bis zum 16. Tag p.c. ausbildet. Diese Dottersackplazenta beschreiben auch nachfolgende Untersucher wie Brambell et al. (1949), Padykula (1958), Franke (1969) und Metz (1978). Neben der Chorion-Allantois-Plazenta sehen diese Autoren die Dottersackplazenta als einen Ort des feto-maternen Stoffaustausches an. Basierend auf den Ergebnissen der oben genannten Autoren kann die Plazenta der Ratte in folgende Abschnitte unterteilt werden:

- 1) Chorion-Allantois-Plazenta: bestehend aus einem feinmaschigen Labyrinth, der Verbindungszone, der Riesenzellschicht und der Decidua basalis.
- 2) Dottersackplazenta, die aus dem visceralen und parietalen Entoderm sowie der Reichertschen Membran besteht.

B e f u n d e

Plazenta:

Histologische Befunde:

Histologische Veränderungen in den mit Haematoxilin und Eosin gefärbten Kryostatschnitten sind sowohl in der Verbindungszone als auch im Epithel der Dottersackplazenta feststellbar. Besonders die Plazenten der Tiere, denen 5 mg/kg/12 Std. Cadmiumchlorid injiziert wurde, weisen in der Verbindungszone Zellnekrosen mit Kernpyknosen auf. Auch im Epithel der Dottersackwand können in erheblichem Ausmaß Zellnekrosen beobachtet werden. In den anderen Gewebeteilen der Plazenta sind entsprechende Veränderungen nicht zu erkennen, allerdings bemerkt man auch in diesen Gewebeabschnitten eine kräftigere Anfärbbarkeit als in den Vergleichspräparaten der Kontrolltiere. In den entsprechenden Plazentaarealen der schwächer geschädigten Tiere der Gruppen II und III sind diese auffälligen Befunde nicht zu erheben. Lediglich in der Verbindungszone können schon vereinzelt beginnende und bereits auch schon ausgebildete Nekrosen beobachtet werden.

Enzymhistochemische Befunde der Plazenta:

Lactatdehydrogenase:

In sämtlichen Plazentabereichen ist in den Kontrollpräparaten eine gut sichtbare LDH-Aktivität festzustellen: In den kubischen Epithelzellen der Dottersackplazenta nimmt die Intensität an den Zellrändern erheblich zu. Im Gewebe des Labyrinths ist die LDH-Aktivität deutlich sichtbar. In der Verbindungszone dagegen ist die Enzymreaktion mit geringerer Intensität abgelaufen. In den vergleichbaren Geweben der geschädigten Tiere der Gruppe I ist die LDH-Aktivität ubiquitär vermindert. In

den Dottersackepithelien ist neben einem deutlichen Ausfall der Enzymaktivität auch stellenweise eine Intensitätszunahme zu verzeichnen (Abb. 1). Im Labyrinth und in der Verbindungszone kommen Gewebsabschnitte mit einem völligen Ausfall der enzymatischen Reaktionen vor. Neben diesen Reaktionsausfällen finden sich Areale, in denen die Reaktionszonen gleichmäßig vermindert sind und über die Zellgrenzen ausgedehnt erscheinen (Abb. 1a). Die Versuchstiere der Gruppen II und III lassen im Epithel der Dottersackplazenta eine gleich intensive bis verstärkte LDH-Aktivität im Vergleich zu den Kontrolltieren erkennen. In den übrigen Plazentaabschnitten bestehen zwischen den Kontrolltieren und den Versuchstieren keine Unterschiede.

Aktivitätsveränderungen der Lactatdehydrogenase:

	Dottersack- epithel	Labyrinth	Verbindungs- zone
5 mg/kg/ 12 Std.	x, ---	x, ---	x, ---
2,5 mg/kg/ 12 Std.	o bis +	o	o
5 mg/kg/ 6 Std.	o bis +	o	o

x : veränderte Enzymlokalisation

o : keine Veränderung

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : erhebliche Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : starke Abschwächung

Saure Phosphatasen:

In den Plazenten der Kontrolltiere imponieren die sauren Phosphatasen besonders im Bereich des Epithels der Dottersackplazenta. Die Reaktion ist sehr intensiv, die Reaktionszonen decken sich weitgehend oder vollständig mit der Zellfläche, d.h. schließen mit den Zellgrenzen ab. Die Verbindungszone und das Labyrinth zeigen demgegenüber keine so starke Reaktion.

In den Plazenten der Versuchstiere, die der stärksten und am längsten dauernden Cadmiumbelastung ausgesetzt waren, findet sich in den vergleichbaren Plazentabereichen eine erhebliche Aktivitätszunahme: So ist die Reaktion im Bereich des Epithels der Dottersackplazenta gegenüber der Norm stark vermehrt, die unscharf begrenzten Reaktionszonen scheinen über die Zellgrenzen hinauszureichen (Abb. 2). In der Verbindungszone finden sich fleckförmig verteilte Areale mit unterschiedlicher Intensität der Reaktion. Diese ist vielfach gegenüber der Norm verstärkt. Ein ähnliches Verhalten zeigt das Labyrinth. Areale mit gleichstarker Aktivität, wie sie das Labyrinth der Kontrolltiere aufweist, wechseln mit Arealen, die durch eine vermehrte Aktivität gekennzeichnet sind (Abb. 2a).

In allen Plazentabereichen der Tiere der Gruppen II und III ist eine geringe Aktivitätszunahme der sauren Phosphatasen festzustellen.

Aktivitätsveränderungen der sauren Phosphatasen:

	Dottersack- epithel	Labyrinth	Verbindungs- zone
5 mg/kg/ 12 Std.	x, +++	x, +++	+++
2,5 mg/kg/ 12 Std.	+	+	+
5 mg/kg/ 6 Std.	+	+	+

x : veränderte Enzymlokalisation

o : keine Veränderung

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : erhebliche Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : starke Abschwächung

ATP - ase:

In den Plazenten der Kontrolltiere ist die ATP-ase-Reaktion deutlich ausgeprägt.

Die Epithelzellen der Dottersackplazenta fallen durch eine starke Enzymreaktion auf. Eine ebenso kräftige und gleichmäßige Aktivität ist in den Zellen des Labyrinths sichtbar.

In der Verbindungszone sind die Wände der mütterlichen Sinus durch eine starke Aktivität der ATP-ase gekennzeichnet, während die übrigen Zellen eine mäßige, gleichförmig verteilte Enzymaktivität zeigen.

Die geschädigten Tiere der Gruppe I weisen in den entsprechenden Gewebsabschnitten eine deutlich schwächere Enzymaktivität auf. Im Epithel der Dottersackplazenta ist die Aktivität deutlich vermindert. Die Reaktionszonen sind nicht nur inhomogen, sondern scheinen sich auch über die Zellgrenzen zu erstrecken (Abb. 3).

Im Labyrinth ist die ATP-ase-Aktivität in den vergleichbaren Zellen vermindert. Die Intensität der Reaktion ist in allen Zellen der Verbindungszone deutlich eingeschränkt. Auch hier bemerkt man wieder unregelmäßig lokalisierte über die Zellgrenzen reichende Reaktionszonen (Abb. 3a). In den Plazenten der geschädigten Tiere der Gruppen II und III sind zwar leichte Aktivitätsabschwächungen festzustellen, jedoch bleibt in diesen Präparaten die Enzymwirkung wie in den Kontrollschnitten auf ihren ursprünglichen Ort begrenzt.

Aktivitätsveränderungen der ATP - ase:

	Dottersack- epithel	Labyrinth	Verbindungs- zone
5 mg/kg/ 12 Std.	x, ---	---	x, ---
2,5 mg/kg/ 12 Std.	-	-	-
5 mg/kg/ 6 Std.	-	-	-

x : veränderte Enzymlokalisation

o : keine Veränderung

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : erhebliche Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : starke Abschwächung

Thiaminpyrophosphatase:

Die Aktivität der TPP-ase ist in den verschiedenen Plazentaarealen der Kontrolltiere nicht gleich stark ausgeprägt.

Im Epithel der Dottersackplazenta findet man eine ausgeprägte und sehr distinkt in den Zellen lokalisierte Enzymreaktion. In den Zellen des Labyrinths ist eine kräftigere, sehr deutliche Aktivitätsintensität festzustellen. Hingegen ist in den Zellen der Verbindungszone nur eine mäßige, aber gut wahrnehmbare Enzymreaktion nachweisbar.

In den Plazenten der geschädigten Tiere der Gruppe I finden sich in den vergleichbaren Organgeweben deutliche Veränderungen. Im Epithel der Dottersackplazenta ist zwar eine kräftige Enzymreaktion nachweisbar, aber auch hier ist die Aktivität des Enzyms nicht mehr gleichmäßig auf die Zellen beschränkt. Unregelmäßig verteilt erkennt man verwaschene Reaktionszonen, welche die Zellgrenzen nicht mehr deutlich erkennen lassen, während an anderer Stelle die Aktivität völlig aufgehoben ist (Abb. 4). Im Labyrinth und in der Verbindungszone ist die Enzymaktivität sehr stark vermindert. Neben völligen Reaktionsausfällen findet sich eine verminderte Enzymaktivität, die nicht mehr sicher bestimmten Zellstrukturen zugeordnet werden kann (Abb. 4a).

Die geschädigten Plazenten der Gruppen II und III zeigen keine wesentlichen Unterschiede.

Aktivitätsveränderungen der Thiaminpyrophosphatase:

	Dottersack- epithel	Labyrinth	Verbindungs- zone
5 mg/kg/ 12 Std.	x, +++	---	--
2,5 mg/kg/ 12 Std.	+	-	-
5 mg/kg/ 6 Std.	+	-	-

x : veränderte Enzymlokalisation

o : keine Veränderungen

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : erhebliche Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : starke Abschwächung

Übersicht der Aktivitätsveränderungen der untersuchten Enzyme bei einer Dosis von 5 mg/kg/12 Std.:

	Dottersack- epithel	Labyrinth	Verbindungs- zone
L D H	x, ---	x, ---	x, ---
Saure Phosphatasen	x, +++	x, +++	+++
ATP-ase	x, ---	---	x, ---
TPP-ase	x, +++	---	--

x : veränderte Enzymlokalisation

o : keine Veränderungen

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : erhebliche Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : starke Abschwächung

Leber der Feten:

Histologische Befunde:

In der Leber der Feten von Versuchsgruppe I (5 mg/kg KG, 12 Std. Manifestationszeit) sind ausgedehnte Hämorrhagien sichtbar. Darüber hinaus sind im Bereich der Blutungs-herde Leberzellnekrosen nachweisbar.

Im Lebergewebe der Feten der Gruppen II (2,5 mg/kg/12 Std.) und III (5 mg/kg/6 Std.) sind wesentlich geringere Hämorrhagien vorhanden.

Enzymhistochemische Befunde der Leber (Feten):

Lactatdehydrogenase:

Die Intensität der Reaktion ist im Lebergewebe der Kontrolltiere besonders in der Peripherie der Leberzellen ausgeprägt (Abb. 5). Im Lebergewebe der mit 5 mg/kg/12 Std. geschädigten Tiere ist das Enzymbild deutlich verändert: Zum größten Teil ist die LDH-Aktivität ausgefallen oder an vielen Stellen abgeschwächt. Bei den Tieren der Gruppen II und III kann dieser Befund nicht erhoben werden. Im Vergleich zu den Kontrolltieren ist hier kein Unterschied in der Enzymaktivität der Leber objektivierbar.

Saure Phosphatasen:

Das Zellbild der Kontrolltiere ist durch eine gleichmäßige Aktivitätsverteilung der sauren Phosphatasen gekennzeichnet. Die am stärksten geschädigten Tiere zeigen in fast allen Leberzellen eine Zunahme der Enzymaktivität. Die Tiere der Gruppen II und III weisen diesen Befund nicht auf. Zwischen geschädigtem Tier und Kontrolltier ist kein Unterschied nachweisbar.

ATP-ase:

In der Leber der Feten der Gruppe I (5 mg/kg KG) wird im

Gegensatz zu den Kontrolltieren eine leichte Abschwächung in den Leberzellen und in den Gefäßwänden sichtbar. Die Tiere der Gruppen II und III zeigen diese Abschwächungen nicht.

TPP-ase:

Die TPP-ase-Aktivitätszonen besitzen in den Leberzellen der Kontrolltiere eine körnige Gestalt und bilden an den Leberzellgrenzen einen dunklen, gut sichtbaren Saum. In den Geweben der geschädigten Tiere der Gruppe I findet sich an den genannten Lokalisationen eine leichte Abschwächung der Enzymaktivität.

Der gleiche Befund, jedoch sehr viel unauffälliger, ist in dem Lebergewebe der Gruppen II und III festzustellen.

Enzymveränderungen in der Leber der Feten:

Dosis	ATP-ase	TPP-ase	L D H	Saure Phosphatasen
5 mg/kg/ 12 Std.	-	-	---	+
2,5 mg/kg/ 12 Std.	o bis -	o bis -	o bis -	o bis +
5 mg/kg/ 6 Std.	o bis -	o bis -	o bis -	o bis +

o : keine Veränderungen

+ : leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : schwere Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : schwere Abschwächung

Organbefunde der Muttertiere:

1. Leber

Histologische Befunde:

Im HE-Bild zeigen sich in der Leber der geschädigten Muttertiere Haemorrhagien unregelmäßig im Lebergewebe verteilt. Dieser Befund ist allerdings nicht bei allen Muttertieren in gleicher Weise ausgeprägt.

Lactatdehydrogenase:

Reaktionszonen und Intensität der Lactatdehydrogenase zeigen keine Unterschiede zwischen den Kontrolltieren und den geschädigten Tieren.

Saure Phosphatasen:

Die Enzymaktivität ist im Vergleich zu den Kontrolltieren verstärkt; die Reaktionszonen sind verbreitert.

ATP-ase:

Die ATP-ase ist im Leberparenchym der geschädigten Tiere teilweise ausgefallen. Neben Zellbereichen, die denen der Kontrolltiere entsprechen, sind Gewebsareale mit abgeschwächter Enzymaktivität in der Zelle zu erkennen.

TPP-ase:

In den Kontrollgeweben ist die TPP-ase besonders an den Zellgrenzen des Leberparenchyms als dunkler Saum gut sichtbar. Im Gewebe der geschädigten Tiere ist dieser "Aktivitätssaum" z.T. verschwunden, z.T. stark abgeschwächt und "löschblattartig" verbreitert (Abb. 6).

2. Niere

Histologische Befunde:

Im HE-Präparat der trächtigen Versuchstiere sind zwischen den Nierentubuli Haemorrhagien erkennbar. Diese Veränderungen treten jedoch nicht bei allen Tieren auf.

Lactatdehydrogenase:

Die LDH zeigt in den Nieren der Versuchstiere keine objektivierbaren Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren.

Saure Phosphatasen:

In den Kontrollpräparaten ist die Enzymaktivität deutlich in den Epithelien der Haupt- und Mittelstücke zu sehen. Eine schwächere, aber gut erkennbare Aktivität ist in den Gefäßwänden des Glomeruluskapillarnetzes vorhanden. In den Nieren der geschädigten Tiere ist sowohl in den Nierentubuli als auch in den Glomeruli die Aktivität der sauren Phosphatasen leicht verstärkt. Ebenso ist eine Verstärkung der Enzymaktivität in den Gefäßwänden zu erkennen.

ATP-ase:

Eine unterschiedliche Reaktion zwischen Kontrolltier und geschädigtem Tier ist nur im Bereich der Kapillarschlingen der Glomeruli festzustellen. Hier weisen die geschädigten Tiere eine geringe Enzymaktivität auf.

TPP-ase:

Im Bereich der Tubulusepithelien und in den Gefäßwänden der Kontrolltiere ist die Reaktion deutlich ausgeprägt. In den Präparaten der geschädigten Tiere ist dagegen die Enzymaktivität in den entsprechenden Bereichen vermindert. Auch diese Veränderungen treten nicht bei allen geschädigten Tieren auf.

3. Darm (Ileum).

Histologische Befunde:

Im HE-Präparat des Darms werden bei den geschädigten Tieren Darmzellnekrosen besonders im Krypten- bisweilen auch im Zottenbereich sichtbar. Häufig gehen diese Nekrosen mit einer Karyorhexis einher.

Lactatdehydrogenase:

In den Präparaten der Kontrolltiere ist die LDH-Aktivität in den hochprismatischen Epithelien der Zotten und Krypten besonders intensiv. In den Zellen des Propriabindegebietes ist die Aktivität ebenfalls gut nachweisbar.

Im Ileum der geschädigten Tiere ist die Intensität der Reaktion in den Epithelzellen und in den Zellen der Lamina propria leicht abgeschwächt. Zusätzlich sind auch hier verwaschene Reaktionszonen im Randbereich der Zellen erkennbar.

Saure Phosphatasen:

Die Epithelsäume sind durch eine auffällige Enzymaktivität gekennzeichnet. Im Bereich der Zellen des Propriabindegebietes wird demgegenüber nur eine mäßige Aktivitätsintensität deutlich. Im Gegensatz zu den Kontrollpräparaten ist die Aktivitätsintensität in den Epithelsäumen der geschädigten Tiere vermindert.

ATP-ase:

Keine Veränderungen im Vergleich zu den Kontrolltieren feststellbar.

TPP-ase:

Keine Veränderungen im Vergleich zu den Kontrolltieren feststellbar.

Übersicht der Enzymveränderungen in den
Organen der Muttertiere.

Applizierte Cadmiummenge: 5 mg/kg/12 Std.

Organ	HE	TPP-ase	ATP-ase	LDH	Saure Phosphatasen
Leber	Häm. Nek.	-	-	o	++
Niere	Häm.	--	-	o	+
Darm	Nek.	o	o	-	- bis +

Häm. : Hämorrhagie

Nek. : Nekrose

o : keine Veränderungen

+

: leichte Verstärkung

++ : mittlere Verstärkung

+++ : schwere Verstärkung

- : leichte Abschwächung

-- : mittlere Abschwächung

--- : schwere Abschwächung

D i s k u s s i o n

Die in der vorliegenden Studie festgestellten Plazentarschäden stehen in Einklang mit den Ergebnissen früherer Arbeiten. Parizek (1964) beschreibt Thromben und Nekrosen besonders im fetalen Teil der Chorion-Allantois-Plazenta. Er beobachtete diese Veränderungen an Mäusen, denen er am 17. bis 24. Trächtigkeitstag eine einmalige Cadmiumdosis appliziert hatte. Chiquoine (1965) stellte bei Mäusen am 6. bis 17. Trächtigkeitstag Blutungen in das Uteruslumen sowie deciduale Gewebstekrosen nach Cadmiumgabe fest. In der vorliegenden Studie konnten keine so massiven Störungen beobachtet werden. Möglicherweise ist dies auf die kürzere Einwirkungsdauer der applizierten Cadmiumverbindung zurückzuführen. Von den oben genannten Autoren wurden die Tiere 24 Stunden einer Cadmiumeinwirkung (5 mg/kg Körpergewicht) ausgesetzt, während in der vorliegenden Studie die maximale Versuchsdauer 12 Stunden betrug. Auch sollen Tiere verschiedener Rattenstämme unterschiedlich stark reagieren (Parzyk et al 1978).

Die eigenen Untersuchungen zeigen im Gewebe des Labyrinths nur geringfügige Schädigungen. Im Bereich der Verbindungszone und der Dottersackplazenta sind jedoch deutliche Veränderungen nachweisbar. Die in diesen Plazentarealen aufgetretenen Veränderungen der Enzymaktivität sind vermutlich auf eine größere Empfindlichkeit oder auch auf eine stärkere Beteiligung dieses Gewebes am Stoffwechselgeschehen zurückzuführen und könnten eine wesentliche Ursache für das Absterben der Feten sein.

Metz, Aoki und Forssmann (1978) konnten nachweisen, daß die Chorion-Allantois-Plazenta bei 20 Tage alten Rattenfeten für einen Stoffaustausch kleiner Moleküle (Gase, Elektrolyte, Aminosäuren) spezialisiert ist, während die Dottersackplazenta den Austausch von Makromolekülen

gewährleistet. Die Dottersackplazenta ist mithin noch am 20. Trächtigkeitstag aktiv am Stoffaustausch zwischen Muttertier und Keimling beteiligt. Die Entwicklung der Dottersackplazenta ist am 16. Trächtigkeitstag abgeschlossen (Everett 1935). Padykula (1958) beobachtete bei normal verlaufender Trächtigkeit am 15. bis 16. Tag einen Anstieg der Enzymaktivität vor allem im visceralen Entoderm der Dottersackplazenta.

Gerade in diesem Bereich traten bei den vorliegenden Untersuchungen Aktivitätsverminderungen und Zellnekrosen auf.

Histophysiologische Studien von Everett (1935) und auch die Experimente von Brambell und Hemmings (1954) verdeutlichen, daß die Dottersackplazenta durchaus zu den Bereichen gehört, die entscheidend am Stoffwechselaustausch zwischen Muttertier und Keimling teilnehmen. Brambell und seine Mitarbeiter (1949) konnten sogar nachweisen, daß mütterliche Antikörper ausschließlich über die Dottersackplazenta in den Keimling gelangen (v. Mayersbach 1958, Schiebeler und Knoop 1959).

Als weitere Ursache für das Absterben der Feten kommt die Schädigung der Verbindungszone infrage. Die eigenen Ergebnisse zeigen eine Verminderung der Aktivität der LDH und ATP-ase sowie eine Intensitätszunahme der sauren Phosphatasen. Wie schon erwähnt, wird dieser Plazentarabschnitt von drei verschiedenen Zelltypen gebildet. Im Verlauf der Gravidität ändert sich der Anteil der einzelnen Zelltypen an der Verbindungszone. Zunächst entstehen aus undifferenzierten Zellen des Trophospongiums Glykogenzellen, die sich dann kontinuierlich in Spongiotrophoblastzellen umbilden (Franke 1969). Am 15. bis 16. Entwicklungstag entstehen hauptsächlich die Spongiotrophoblastzellen, so daß sie von diesem Zeitpunkt an das "Zellbild" der Verbindungszone beherrschen (Padykula und Richardson 1963, Franke

1969). Diese Veränderungen in der Zellzusammensetzung gehen mit einer Erhöhung der Enzymaktivität einher, die Padykula (1958) am 17. Trächtigkeitstag feststellte. Das Gewebe war also bei den hier beschriebenen eigenen Versuchen in einer wichtigen Umbauphase der schädigenden Noxe ausgesetzt. Auch die Funktion der Spongiotrophoblast- und Riesenzellen scheint für die weitere Reifung bedeutungsvoll zu sein, wenn auch ihre Aufgaben noch nicht vollständig geklärt sind: Schiebler und Knoop (1959) sowie Franke (1969) vermuten eine erhöhte Eiweißsynthese dieses Gewebes, da die Feinstruktur der Spongiotrophoblastzellen sehr der Struktur proteinbildender Zellen ähnlich ist. Auch die Aufgabe der Riesenzellen ist noch ungeklärt. Unbestritten ist ihre Fähigkeit zur Phagozytose (Schenk 1957, Schiebler und Knoop 1959, Deane und Mitarbeiter 1962).

Untersuchungen von Deane und Mitarbeiter sprechen dafür, daß in den Riesenzellen Steroidhormone gebildet werden. Die Untersucher wiesen in den Riesenzellen histochemisch und biochemisch das Vorkommen einer Delta - 3 beta - Hydroxysteroid-dehydrogenase-Aktivität nach. Dieses Enzym ist unentbehrlich in der Biosynthese der Steroidhormone. Die Verminderung der Enzymaktivität sowie Zellnekrosen in diesem Gewebeabschnitt sind ein weiteres Indiz dafür, daß die Frucht durch eine Plazentaschädigung abstirbt. Die Plazenta, vor allem die Dottersackplazenta und die Verbindungszone, wird demnach bei den hier beschriebenen eigenen Versuchen in einer Phase besonders ansteigender Enzymaktivität der schädigenden Cadmiumdosis ausgesetzt. In den entsprechenden Plazentarabschnitten der Tiere der Gruppen II und III sind analoge Schäden nicht erkennbar.

Zellnekrosen und eine sehr auffällige Verminderung der LDH in der Leber der Feten werfen die Frage auf, ob eine

Schädigung der Frucht nicht auch durch direkte Cadmiumeinwirkung auf den Keimling verursacht werden kann. Diese Frage ist nicht eindeutig zu beantworten. Berlin und Ullberg (1963) stellten in einer autoradiographischen Studie mit ^{109}Cd Chlorid an der Maus zwar eine Cadmiumaufnahme in der Plazenta, nicht aber im Keimling fest. Die trächtigen Tiere wurden am 18. Trächtigkeitstag getötet und waren einer injizierten Dosis von $8\mu\text{C Cd } ^{109}\text{Cl}_2$ in Zeitabschnitten von 5 Minuten bis zu 16 Tagen ausgesetzt. Ferm, Hanlon, Urban (1969) konnten dagegen in ihrer Untersuchung mit radioaktiven Cadmiumverbindungen an der Hamsterplazenta Cadmium im fetalen Gewebe nachweisen. Allerdings applizierten sie den Schadstoff am 8. Trächtigkeitstag und töteten die Tiere 24 Stunden bzw. 96 Stunden später. Da mithin nachgewiesen wurde, daß die Plazenta mit steigendem Entwicklungsalter eine Barriere für den Transport von Cadmiumverbindungen bildet, sprechen die gefundenen Leberschäden am 16. Trächtigkeitstag eher gegen eine direkte Schädigung des fetalen Lebergewebes.

Eine weitere mögliche Ursache für das Absterben der Feten ist in einer Schädigung der mütterlichen Organe zu sehen. Die Verteilung des Cadmiums im Organismus wurde, wie erwähnt, in autoradiographischen Studien festgestellt (Berlin und Ullberg 1963; Ferm, Hanlon und Urban 1969). Die höchsten Konzentrationen von Cadmium finden sich bei Tieren nach subcutaner Injektion, und zwar in der Leber und in der Nierenrinde; nur kleine Mengen von Cadmium wurden im Intestinaltrakt, in der Lunge, im Herz und im Skelett nachgewiesen (Berlin und Ullberg 1963, Gunn and Gould 1968). Das Cadmium verbleibt bei Versuchstieren kurz nach der Applikation zum größten Teil im Plasma und wird dann in Leber und Niere aufgenommen; 24 Stunden nach der Exposition befindet sich der größte

Teil des Cadmiums, gebunden an Metallothionein, in den Erythrocyten (Nordberg 1971). Das Metallothionein, mit einem Molekulargewicht von ca. 10 000, ist ein metallbindendes Protein (Kägi 1961).

Aufgrund des niedrigen Molekulargewichts kann das Metallothionein zusammen mit dem gebundenen Cadmium in die Erythrozyten eindringen und wird auf diese Weise transportiert (Friberg, Piscator 1971). Wahrscheinlich sind noch andere Proteine wie Haemoglobin, Albumin und zinkabhängige Enzyme am Cadmiumtransport beteiligt (Carlsson und Friberg 1957, Friberg und Piscator 1974). Die schädigende Wirkung von Cadmium auf Organe wie Niere und Hoden ist durch zahlreiche Untersuchungen gesichert. Vergleichbare Untersuchungen am Darm - wie in dieser Arbeit vorgenommen - sind in der bearbeiteten Literatur nicht erwähnt. Die in der vorliegenden Studie festgestellten Veränderungen im Darmepithel der Muttertiere sind aber so geringfügig, daß sie als Ursache für die Keimlingsschädigung wenig wahrscheinlich sind.

Die Untersuchungen an der Leber von Nagetieren, die Cadmiumverbindungen erhalten hatten, führten zu keinen einheitlichen Ergebnissen. Meek (1959) beobachtete in seinen Untersuchungen an männlichen Mäusen 30 bzw. 96 Stunden nach Cadmiumapplikation unregelmäßig verteilte Leberzellnekrosen. Webb (1972) beobachtete eine "fettige Degeneration" und eine Nekrose von Leberzellen. Demgegenüber konnten Chiquoine (1965) in Experimenten an trächtigen Ratten sowie Gunn and Gould (1968) in Versuchen mit Mäusen keine Schäden in der Leber der Versuchstiere beobachten. Diese unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse können auf die Verwendung verschiedener Nagetierarten zurückzuführen sein. Außerdem wurde in jeder der aufgeführten Untersuchungen eine andere Cadmiumdosis verabreicht.

Die eigenen Ergebnisse zeigen ebenfalls leichte Schäden in der Leber der Muttertiere, die aber auch nicht bei allen Versuchstieren auftreten. Unter Berücksichtigung eigener Resultate und der Ergebnisse der oben zitierten Untersuchungen ist eine leichte Schädigung der Leber der Muttertiere nach 12-stündiger Cadmiumapplikation wahrscheinlich. Es ist hingegen unwahrscheinlich, daß diese Schäden mit den Veränderungen in der Plazenta zusammenhängen, da zur Aufrechterhaltung des Stoffwechsels noch gesundes Lebergewebe vorhanden ist. Diese Vermutung wird durch die Arbeit Chiquoines (1965) gestützt. Er stellte 24 Stunden nach Gabe einer Dosis von 0,02 mg/kg Körpergewicht Plazentaschäden (Nekrosen) und ein Absterben der Feten fest. Dagegen konnte er im mütterlichen Organismus keine Läsionen beobachten.

Eine große Anzahl von Untersuchern beschreiben Nierenschäden nach Cadmiumaufnahme (u.a. Axelsson und Piscator 1966).

Nach einer Cadmiumvergiftung werden Veränderungen besonders in den proximalen Tubuli festgestellt (Itokawa 1978, Webb 1972). Die Schädigung der Hauptstücke bewirkt eine Störung der tubulären Reabsorption, die zu einer Proteinurie führt (Piscator und Axelsson 1970). Die eigenen Untersuchungen ergaben eine leichte Schwellung der Hauptstücke, verbunden mit einer geringen Steigerung der Aktivität der sauren Phosphatasen. Die Läsionen in der Niere sind weniger auffällig als in der Plazenta. Auch Chiquoine (1965) stellte zwar erhebliche Plazentaneekrosen, aber keine Nierenveränderungen fest. Webb (1972) vermutete sogar, daß nach Cadmiumapplikation trächtiger Ratten Leber- und Nierenschäden erst durch eine Zerstörung der Plazenta und somit über eine Toxiämie entstehen.

Somit bleibt als plausibelste Erklärung für das beobachtete Absterben der Feten eine Schädigung der Plazenta. In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von Parizek (1957) von Interesse, der nach Cadmiumgabe deutliche Schäden in den Gefäßen von Rattenhoden feststellen konnte.

Andere Untersucher beschreiben ähnliche Gefäßveränderungen in den Blutgefäßen der Plazenta und der Ovarien (Kar and Das 1959, Chiquoine 1965). Parizek (1964) nimmt als Ursache für die von ihm festgestellten Veränderungen in den Gefäßen am Hoden und in der Plazenta eine steroid-abhängige Zirkulationsstörung an. Copius, Peereboom-Stegemann und Jongstra-Spaapen (1979) entdeckten bei lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Uterus präpuberaler Ratten deutliche Hinweise auf eine Störung der Mikrozirkulation nach Cadmiumexposition. Sie injizierten den Untersuchungstieren subcutan eine subletale Dosis von 0,5 mg Cadmiumchlorid pro 100 g Körpergewicht und stellten 24 Stunden später eindeutige Schäden am Endothel kleiner Blutgefäße fest, die sich unter dem Uterusepithel befanden: Neben vereinzelt Endothelnekrosen fanden sie völlig zerstörte Wandstrukturen. Untersuchungen an den Gefäßen des Hodens wiesen ähnliche Ergebnisse auf. Nach neueren Erhebungen stellten Aoki und Hoffer (1978) fest, daß eine Schädigung des Hodengewebes über eine Alteration des Endothels des zugehörigen Gefäßsystems erfolgt.

Sie nehmen an, daß der Mechanismus der "disseminierten intravasalen Gerinnung" für die Ätiologie der Gefäßveränderungen nach Cadmiumgabe verantwortlich ist. Aoki und Hoffer stützen sich in ihrer Annahme auf die Untersuchungen von Penick und Roberts (1964), die den Mechanismus der disseminierten intravasalen Gerinnung im Hodengefäßsystem beschrieben.

Möglicherweise könnte ein ähnlicher Pathomechanismus auch in den Gefäßen der Plazenta und des Uterus ablaufen. Die Arbeiten von Parizek (1964) und von Peereboom-Stegemann (1979) geben Anhaltspunkte für diese Vermutungen. Auch

die eigenen Untersuchungsergebnisse lassen sich unter diesem Aspekt diskutieren, da deutliche Veränderungen im visceralen Teil der Dottersackplazenta, die besonders gut vascularisiert ist (Padykula 1958) und in der Verbindungszone, die durch einen hohen Blutdurchfluß gekennzeichnet ist (Everett 1935), auftreten.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wird der Frage nachgegangen, warum die Keimlinge von Ratten nach intraperitonealer Cadmiumapplikation der Muttertiere während der Embryogenese überleben, nach Gabe einer gleich hohen Dosis während der Fetogenese hingegen absterben. Die Untersuchungen wurden an 20 trächtigen Wistarratten und deren Feten durchgeführt. Am 16. Trächtigkeitstag waren die Muttertiere folgenden Cadmiumdosen ausgesetzt:

1. Gruppe: 5 mg/kg KG (Versuchsdauer 12 Stunden)
2. Gruppe: 2,5 mg/kg KG (Versuchsdauer 12 Stunden)
3. Gruppe: 5 mg/kg KG (Versuchsdauer 6 Stunden)

Die histologischen und enzymhistochemischen Untersuchungen der 10 µm dicken Kryostatschnitte konzentrierten sich besonders auf die Plazenta und die Leber der Keimlinge. Zusätzliches Interesse galt möglichen Veränderungen in der Leber, der Niere und im Darm der Muttertiere. In den Organen der Tiere, die mit einer Cadmiumdosis von 2,5 mg/kg KG/12 Stunden bzw. mit 5 mg/kg KG/6 Stunden behandelt waren, konnten nur geringe, nicht regelmäßig auftretende Schädigungen festgestellt werden.

Dagegen traten erhebliche Veränderungen bei den Tieren auf, die der höchsten Dosis 12 Stunden lang ausgesetzt gewesen waren. Hier fanden sich auffällige Aktivitätsverminderungen in der Verbindungszone der Plazenta und in der Dottersackplazenta.

Ebenso zeigten sich in der Leber der Keimlinge Veränderungen der Enzymaktivität und Zellnekrosen. In den Organen der Muttertiere waren nur geringfügige oder gar keine Veränderungen nachweisbar.

Aufgrund der eigenen Untersuchungsergebnisse und der Erkenntnisse aus der bekannten Literatur ist ein Absterben der Frucht wahrscheinlich auf eine Schädigung der für den Stoffaustausch und für die endokrine Funktion wichtigen Plazentarabschnitte zurückzuführen.

Die sehr geringen Schäden der mütterlichen Organe scheiden als Ursache des Absterbens der Keimlinge aus. Noch nicht zu beantworten ist die Frage, ob die Leberschädigungen der Keimlinge nicht auch primär durch die Cadmiumvergiftung hervorgerufen werden können.

B i l d a n h a n g

Abb. 1 Plazenta: Lactatdehydrogenase

Kontrolle

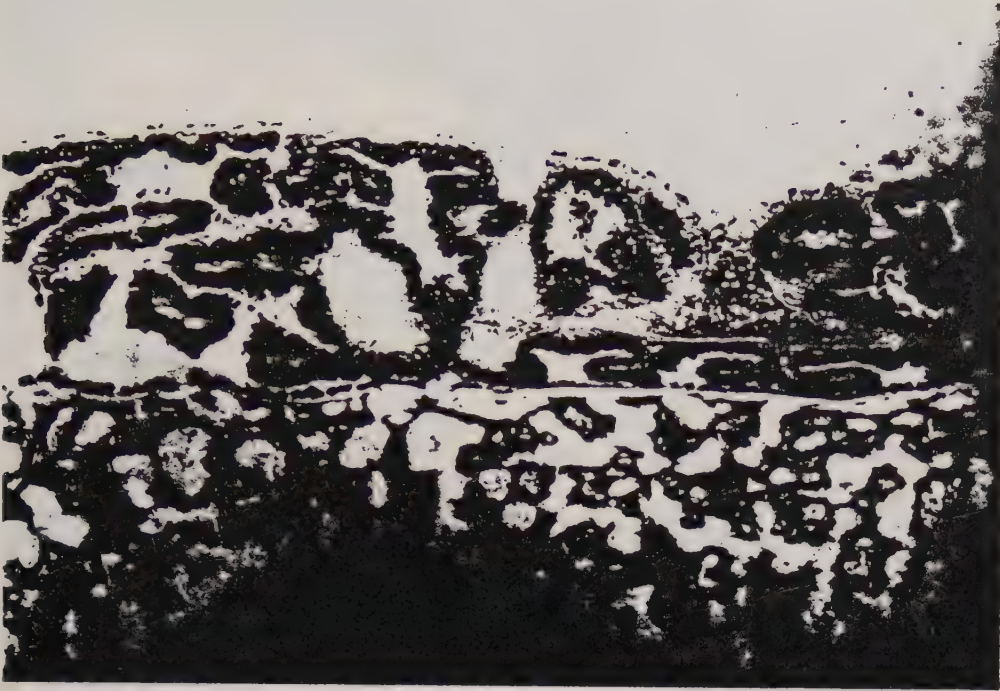
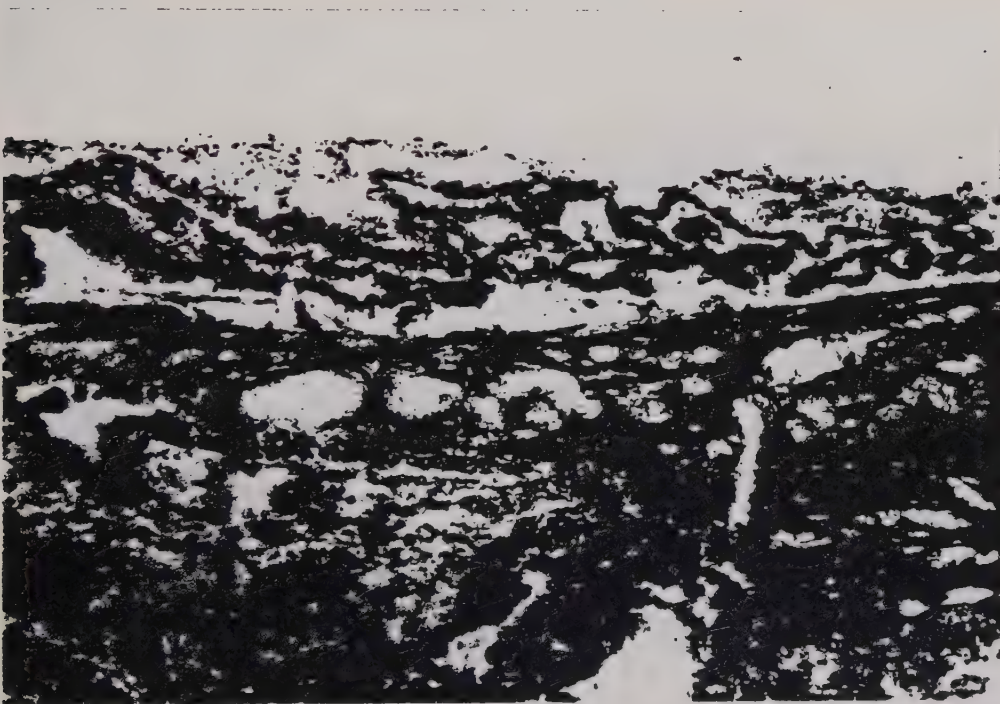


Abb. 1a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



Ausfall der LDH-Aktivität und stellenweise Aktivitäts-
zunahme im Dottersackepithel.

Abb. 2 Plazenta: Saure Phosphatasen

Kontrolle

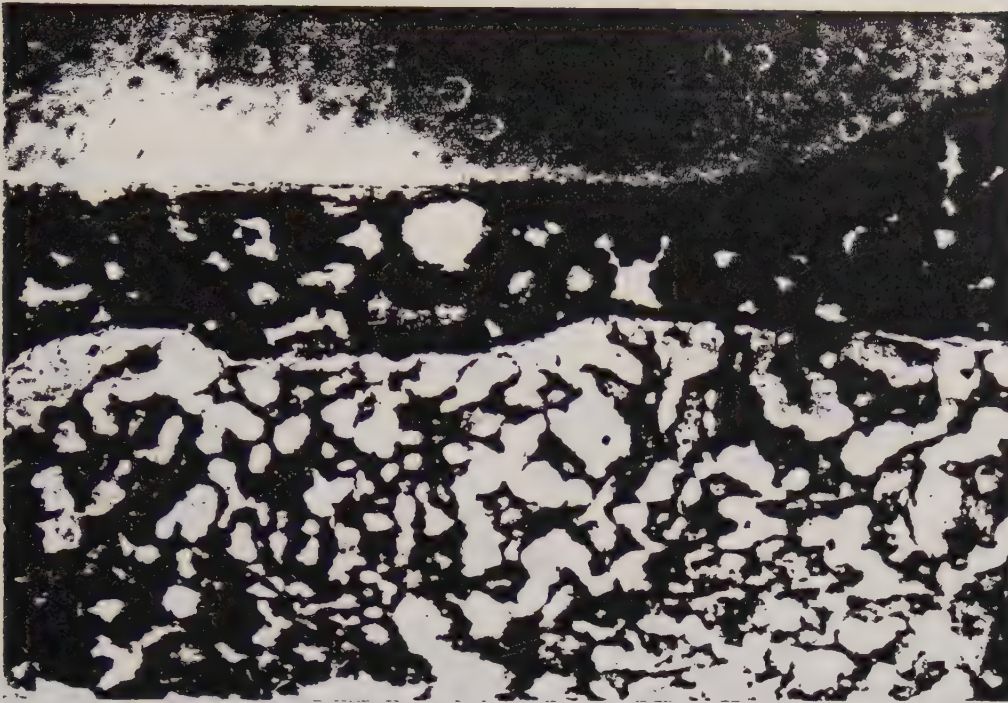


Abb. 2a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



Reaktion im Dottersackepithel mit erhöhter Intensität,
fleckförmige Ausfälle im Labyrinth.

Kontrolle

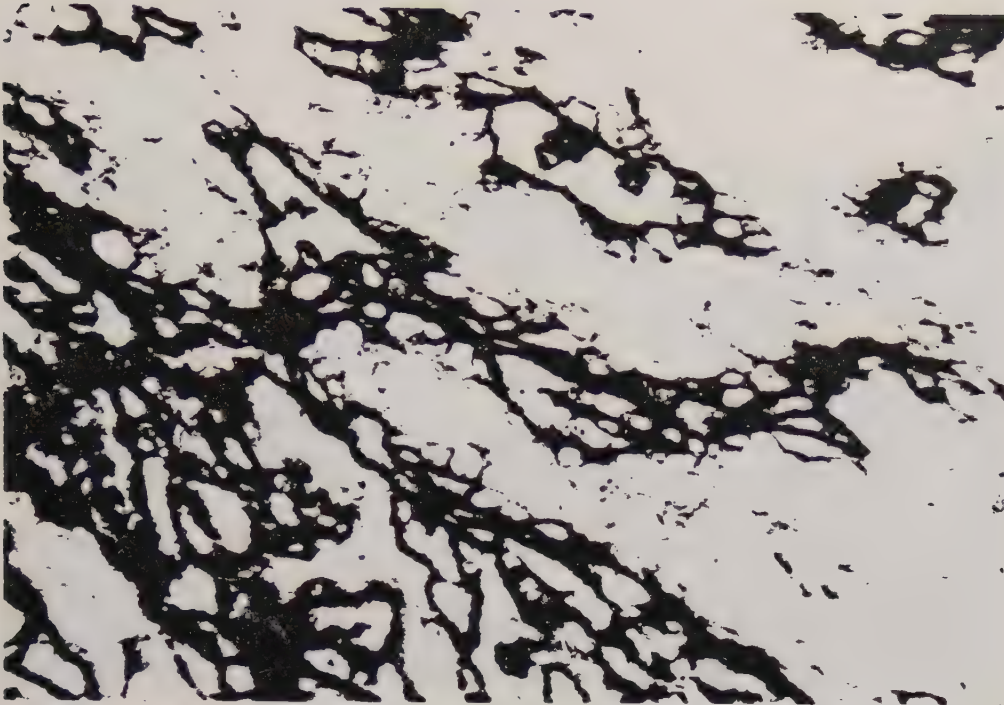
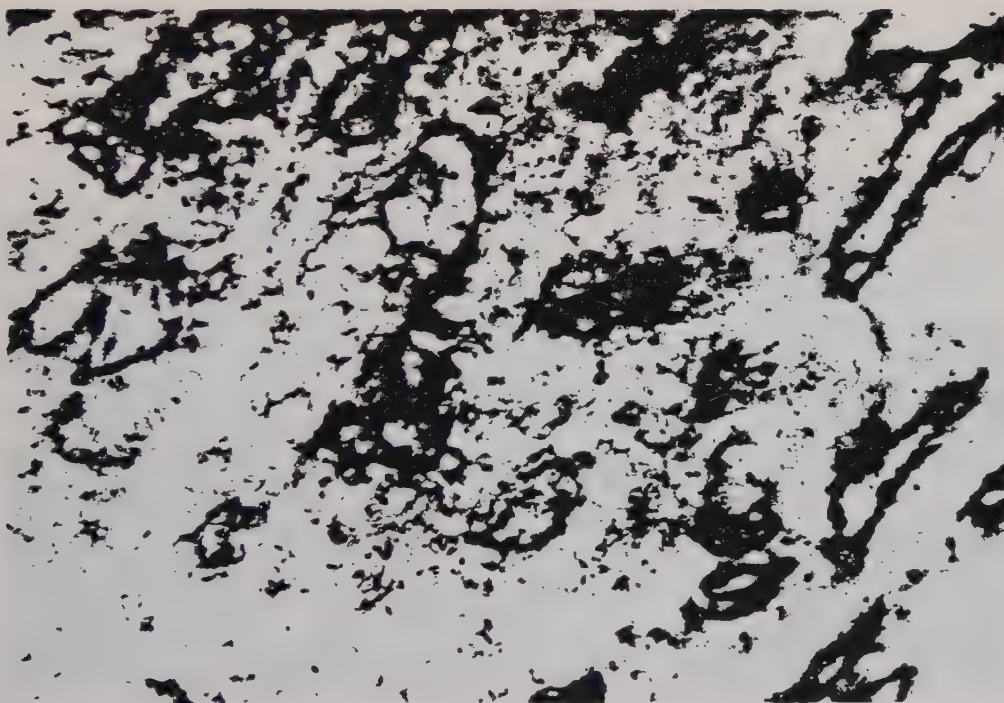


Abb. 3a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



Deutliche Intensitätsabnahme der Reaktion in der
Verbindungszone.

Kontrolle

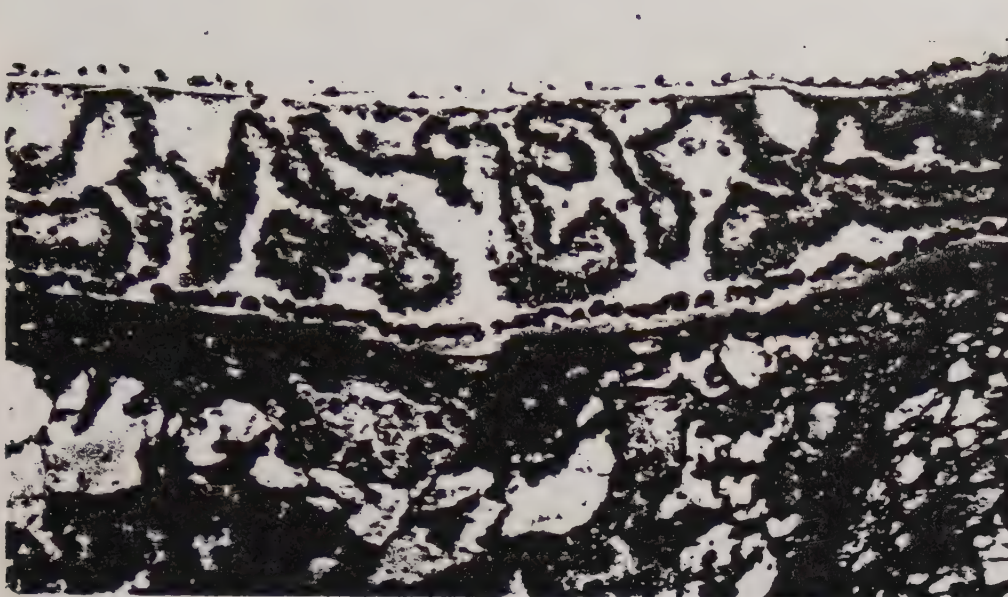
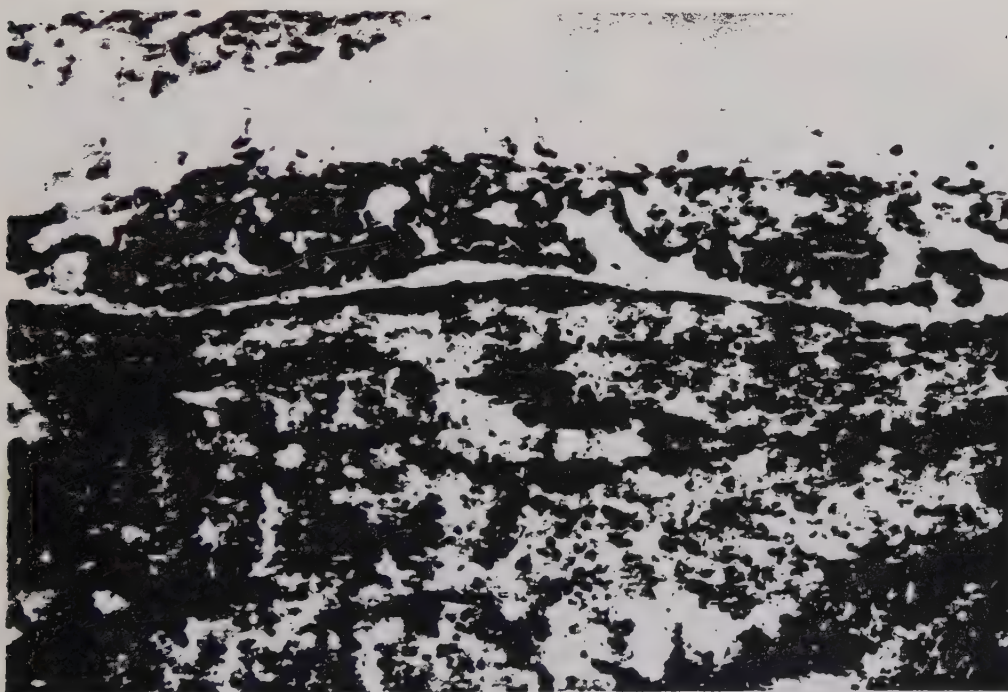


Abb. 4a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



Zerflossene und über die Zellgrenzen hinausgehende Reaktionszone im Dottersackwandepithel.

Deutlich verminderte Enzymaktivität im Labyrinth und in der Verbindungszone.

Kontrolle



Abb. 5a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



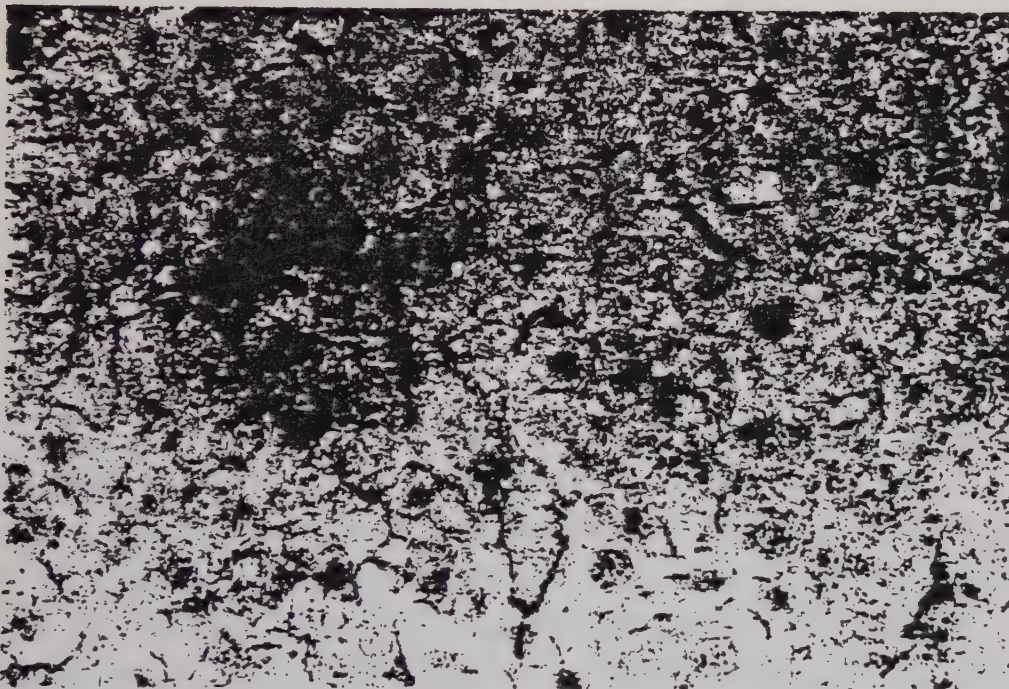
Deutliche Verminderung der Enzymaktivität.

Kontrolle



Abb. 6a

Versuchstier: 5 mg/kg KG/12 Std.



Deutliche Verminderung bis völliger Ausfall der
Enzymaktivität.

Literaturverzeichnis

- Allen, J.M., and Slater, J.J., A cytochemical study of Golgi Associated Thiamine Pyrophosphatase in the Epididymis of the mouse. J.Histochem.Cytochem. 9, 418-423 (1961).
- -- , A chemical and histochemical study of enzymes dephosphorylating adenosine phosphate esters in the epididymis of normal, castrated mice. Amer.J.Anat. 105, 117-139 (1959).
- Aoki, A., and Hoffer, A.P., Reexamination of the lesions in rat testis caused by cadmium. Biology of Reproduction 18, 579-591 (1978).
- Axelsson, B., and Piscator, M., Renal damage after prolonged exposure to cadmium. An experimental study. Arch.Environ.Health. 12, 360-373 (1966).
- Barka, T., and Anderson, P.J., Histochemical methods acid phosphatase using hexazonium pararosaniline as coupler. J.Histochem.Cytochem. 10, 741-743 (1962).
- Barr, M.Jr., The teratogenicity of cadmium chloride in two stocks of Wistar rats. Teratology, 7, 232-242 (1973).
- Berlin, M., and Ullberg, S., The fate of ^{109}Cd in the mouse. An autoradiographic study after a single intravenous injection of $^{109}\text{CdCl}_2$. Arch.Environ.Health. 7, 37-44 (1963).
- Brambell, F.W.R., and Hemmings, W.A., Active transport through embryonic membranes. Symp.Soc.exp.Biol. 8, 476-489 (1954).
- Brambell, F.W.R., and Hemmings, W.A., Henderson, M., Parry, H.J., and Rowland, W.T., The route of antibodies passing from maternal to foetal circulation in rabbits. Pro.roy.Soc.B., 131-144 (1949).
- Carlsson, L.A., and Friberg, L., The distribution of cadmium in blood after repeated exposure. Scand.J.Clin.Lab. Invest. 9, 67-70 (1957).

- Chernoff, N., Teratogenic effects of cadmium in rats. *Teratology*, 8, 29-32 (1973).
- Chiquoine, A.D., Effect of cadmium chloride on the pregnant albino mouse. *Journal of Reproductions and Fertlity*. 10, 263-265 (1965).
- Copius Peereboom-Stegemann, J.H.J., and Jongstra-Spaapen, E.J., The effect of a single sublethal administration of cadmium chloride on the microcirculation in the uterus of the rat. *Toxicology*, 13, 199-213 (1979).
- Davies, J., and Glasser, S.R., Histological and fine structural observation on the placenta of the rat. *Acta anatomica* 69, 542-608 (1968).
- Deane, J.W., Rubin, B.L., Lobel, B.L., and Leipsner, G., Trophoblastic giant cells in placentas of rats and mice and their probable role in steroid-hormone production. *J. Endocr.* 70, 407 (1962), zitiert nach Franke S. 42.
- Dempsey, E.W., and Wislocki, G.B., Histochemical reactions associated with basophila and acidophila in the placenta and pituitary gland. *American J. Anatomy* 76, 277-301 (1945).
- Duval, M., Le placenta des rongeurs. III. Le placenta de la souris et du rat. *J. de l'anat. et de la physiol. T.* 27, 24-96 (1891).
- Everett, J.W., Morphological and physiological studies in the placenta of the rat. *Journal of experimental Zoology* 70, 243-284 (1935).
- Ferm. H., Hanlon, D.P., Urban, J., The permeability of the hamster placenta to radioactive cadmium. *J. Embryol. exp. Morph.* 22, 107-113 (1969).
- Forssmann, W.G., Metz, J., Heinrich, D., Gap junctions in the hemitrichorial placenta of the rat. *J. Ultrastruct. Res.* 53, 311-318 (1975).

- Franke, H., Feinstruktur der Placenta (Elektronenoptische Untersuchungen über die reifende und reife Placenta der Ratte). G.Fischer Verlag Jena, S.40-115 (1969).
- Friberg, L., Piscator, M., and Nordberg, G., Cadmium in the environment. CRC Press, Cleveland 1971, aus: Luftqualitätskriterien für Cadmium; Umwelt Bundesamt; Berichte 4/77. Hersg. von Umwelt Bundesamt (77).
- Friberg, L., Piscator, M., and Nordberg, G., and Kjellström, T., Cadmium in the environment, Second Edition, CRC Press, Cleveland 1974, aus: Luftqualitätskriterien für Cadmium; Umwelt Bundesamt; Berichte 4/77. Hersg. von Umwelt Bundesamt (77).
- Gunn, A.A., Gould, T.C., and Anderson, W.A.D., Selectivity of organ response to cadmium injury and various protective measures. J.Path.Bacteriol. 96, 69-75 (1968).
- Hilscher, W., Wirkung von Schwermetallen auf die weibliche Gametogenese und die Pränatalentwicklung. Med. Institut für Lufthygiene u. Silikoseforschung, Jahresbericht 7, 109-121 (1974).
- Hilscher, W., Hilscher, B., Einflüsse der Umwelt auf die Embryonalentwicklung. In: Lufthygiene und Silikoseforschung, Jahresbericht 11, 106-142 (1978).
- Ischizu, S., et al: An experimental study on teratogenic effect of cadmium. Industr.Hlth. (Kawasaki) 11, 127-139 (1973).
- Itokawa, Y., et al., Renal and skeletal lesions in experimental cadmium poisoning of rats. Histology and renal function. Environmental Research 15, 206-218 (1978).
- Kar, A.B., and Das, R.P., and Karkun, J.N., Ovarian changes in prepuberal rats after treatment with cadmium chloride. Acta.Biol.med.ger. 3, 372-399 (1959).
- Kägi, J.H.R., and Vallee, B.L., Metallothionein: A cadmium and zinc containing protein from equine renal cortex. II. Physiochemical properties. J.Biol.Chem. 236, 2435-2442 (1961).
- v. Mayersbach, H., Zur Frage des Proteinübergangs von der Mutter zum Feten, Befunde an Ratten am Ende der Schwangerschaft. Zeitschrift für Zellforschung 48, 479-504 (1958).

- Meek, E.S., Cellular changes induced by cadmium in mouse testis and liver. *British Journal of Experimental Pathology* 40, 503-506 (1959).
- Metz, J., Aoki, A., and Forssmann, W.G., Studies on the ultrastructure and permeability of the hemitrichorial placenta. *Cell. Tiss. Res.* 192, 391-407 (1978).
- Michel, G., *Kompedium der Embryologie der Haustiere*, Fischer Stuttgart 1972, S. 154.
- Nordberg, G.F., Piscator, M., and Nordberg, M., On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 30, 289-295 (1971).
- Ogawa, K., and Shinonaga, Y., Role of intermediators in the tetrazolium histochemistry. *Acta anat. nippon.* 36, 550-560 (1961).
- Padykula, H., and Herman, E., Factors affecting the activity adenosine triphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. *J. Histochem. Cytochem.* 3, 161-169 (1955).
- -- , The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.* 3, 176-195 (1955).
- Padykula, H., A histochemical and quantitative study of enzymes of rat's placenta. *J. Anat.* 92, 118-128 (1958).
- Padykula, H., and Richardson, D., A correlated histochemical and biochemical study of glycogen storage in the rat placenta. *Amer. J. Anat.* 112, 215-243 (1963).
- Padykula, H., Deren, I.J., Wilson, T.H., Development of structure and function in the mammalian yolk sac. 1. Developmental morphology and Vitamin B12 uptake of the rat yolk sac. *Develop. Biol.* 13, 311-318 (1966).
- Parizek, J., The destructure effect of cadmium iron on testicular tissue and its prevention by zinc. *J. Endocrinol.* 15, 56-63 (1957).

- Parizek, J., Vascular changes at sites of oestrogen biosynthesis produced by parenteral injection of cadmium salts: The destruction of placenta by cadmium salts. *Journal of Reproduction and Fertility*, 7, 263-265 (1964).
- -- , The peculiar toxicity of cadmium during pregnancy: an experimental "toxemia of pregnancy" induced by cadmium salts. *J. of Reproduction and Fertility* 9, 111-112 (1965).
- Parzyk, D.C., et al., Fetal effects of cadmium in pregnant rats on normal and zinc deficient diets. *Bulletin of Environmental contamination and Toxicology* 19, 206-214 (1978).
- Pearse, A.G.E., *Histochemistry, Theoretical and Applied*, Vol. 2, 3rd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh and London 1972.
- Penick, G.D., and Roberts, H.R., Intravascular clotting: Focal and systemic. *Exp. Path.* 3, 269-328 (1964).
- Piscator, M., and Axelsson, B., Serum proteins and kidney function after exposure to cadmium. *Arch. Environ. Health* 21, 604-608 (1970).
- Reiss, J., Grundlagen und neuere Ergebnisse des histochemischen Nachweises von Dehydrogenasen mit Tetrazoliumsalzen. *Z. wiss. Mikrosk.* 68, 169-189 (1967).
- Rosa, Ch.G., and Tsou, Kwang-Chung, Use of tetrazolium compounds in oxidative enzyme histo- and cytochemistry. *Nature (Lond.)* 192, 990-991 (1961).
- Schenk, R., Implantation und deciduale Reaktion in der Embryonalentwicklung des Goldhamsters. *Z. Anat. Entwickl.-gesch.* 120, 75-94 (1957).
- Schiebler, T.H. und Knoop, A., Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Rattenplazenta. *Zeitschrift für Zellforschung* 50, 494-552 (1959).

- Stark, D., Embryologie. Ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage. 3. Neubearb. u. erw. Aufl. Stuttgart Thieme 1975, S. 285.
- Webb, M., Persistence of stored Cd^{2+} in livers and kidneys of female rats during pregnancy. J. Reproduct. Fert. 30, 99-103 (1972).
- Winkler, J., Zum Einfrieren von Gewebe in Stickstoff gekühltem Propan. Histochemie 23, 44-50 (1970).

Herrn Professor Dr. med. H. Hilscher danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung während der Arbeit.

Frau Hahner möchte ich für die technische Unterstützung und Herrn Dr. Passia für die Anleitung und Betreuung der Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. med. Goslar möchte ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates danken.

L e b e n s l a u f

Am 4. 2. 1949 wurde ich, Peter Bierwirth, als 7. Kind des Diplomingenieurs Josef Bierwirth und seiner Ehefrau Christine Bierwirth, geb. Klüber, in Fulda geboren.

1955 trat ich in die Volksschule in Lendersdorf bei Düren ein und besuchte ab 1960 das Schalker Gymnasium in Gelsenkirchen.

1970 beendete ich meine Schulausbildung mit dem Abitur und leistete danach bis März 1972 meinen Wehrdienst ab.

Mein Studium begann ich im Sommersemester 1972 an der Sporthochschule Köln. Im März 1975 absolvierte ich mein Staatsexamen als Diplomsportlehrer.

Anschließend nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Universität Düsseldorf auf.

Im April 1981 beendete ich das Medizinstudium mit dem Staatsexamen.

Seit Juni 1981 bin ich als Assistenzarzt in der Chirurgischen Abteilung des Evangelischen Krankenhauses Gelsenkirchen tätig.

Peter Bierwirth

